

CARATTERI QUANTITATIVI

Verso i caratteri a **variabilità continua**

sono sotto il controllo genetico di molti geni,

risentono fortemente **dell'influenza dell'ambiente**,

mentre l'effetto dei singoli geni è scarso;

hanno una **variabilità fenotipica di tipo continuo**

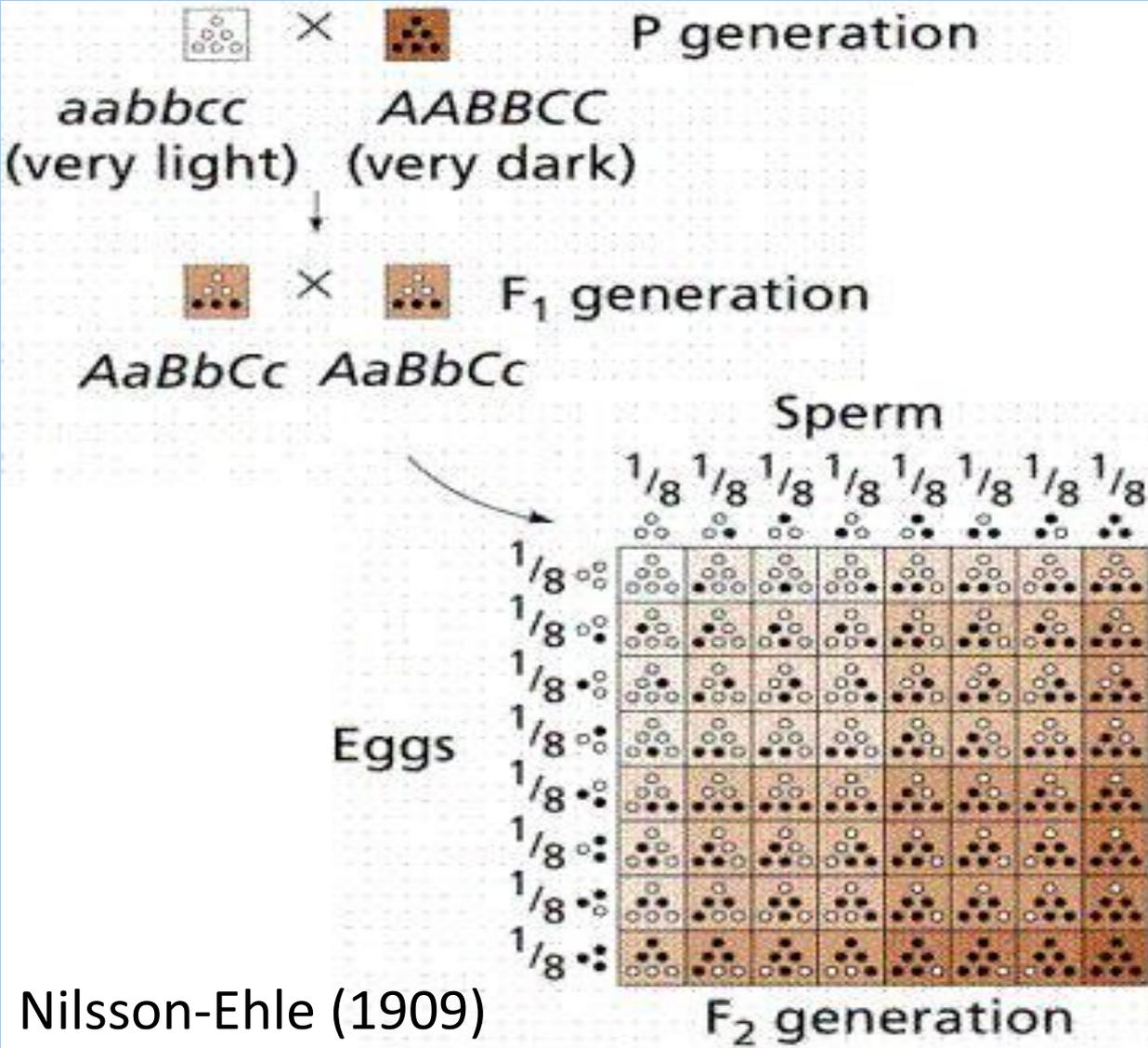
l'analisi genetica è condotta mediante la **stima di medie, varianza e covarianza** (ANOVA, analisi della correlazione e della regressione).

I risultati in F1 per 7 caratteri

Character	Dominant Trait	×	Recessive Trait	F ₂ Generation Dominant:Recessive	Ratio
Flower color	 Purple	×	 White	705:224	3.15:1
Flower position	 Axial	×	 Terminal	651:207	3.14:1
Seed color	 Yellow	×	 Green	6022:2001	3.01:1
Seed shape	 Round	×	 Wrinkled	5474:1850	2.96:1
Pod shape	 Inflated	×	 Constricted	882:299	2.95:1
Pod color	 Green	×	 Yellow	428:152	2.82:1
Stem length	 Tall	×	 Dwarf	787:277	2.84:1

Associazione

If the genes are on the same chromosome then they obviously cannot assort independently because they are tied or **LINKED** together and **would be expected to remain together** during meiosis



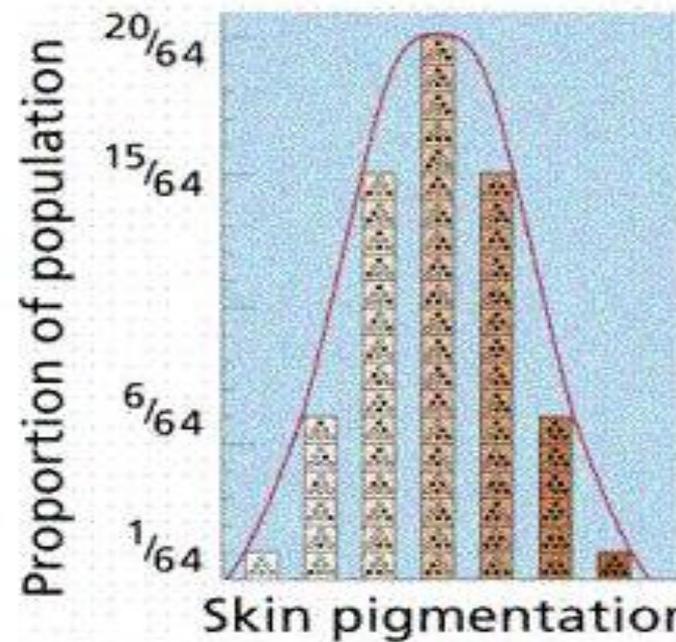
Triibridi ed oltre

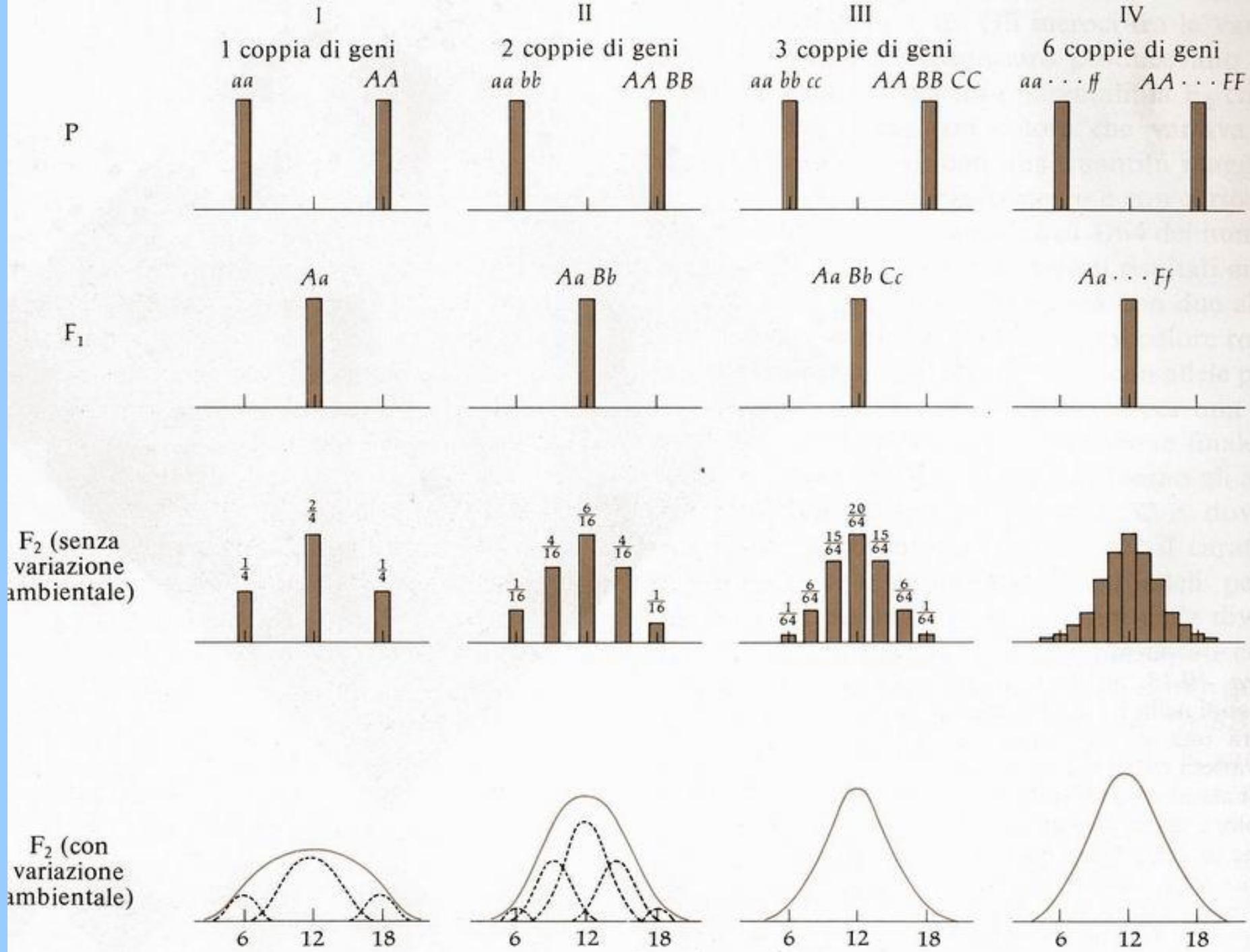
Colore della cariosside di frumento

Nilsson-Ehle (1909)



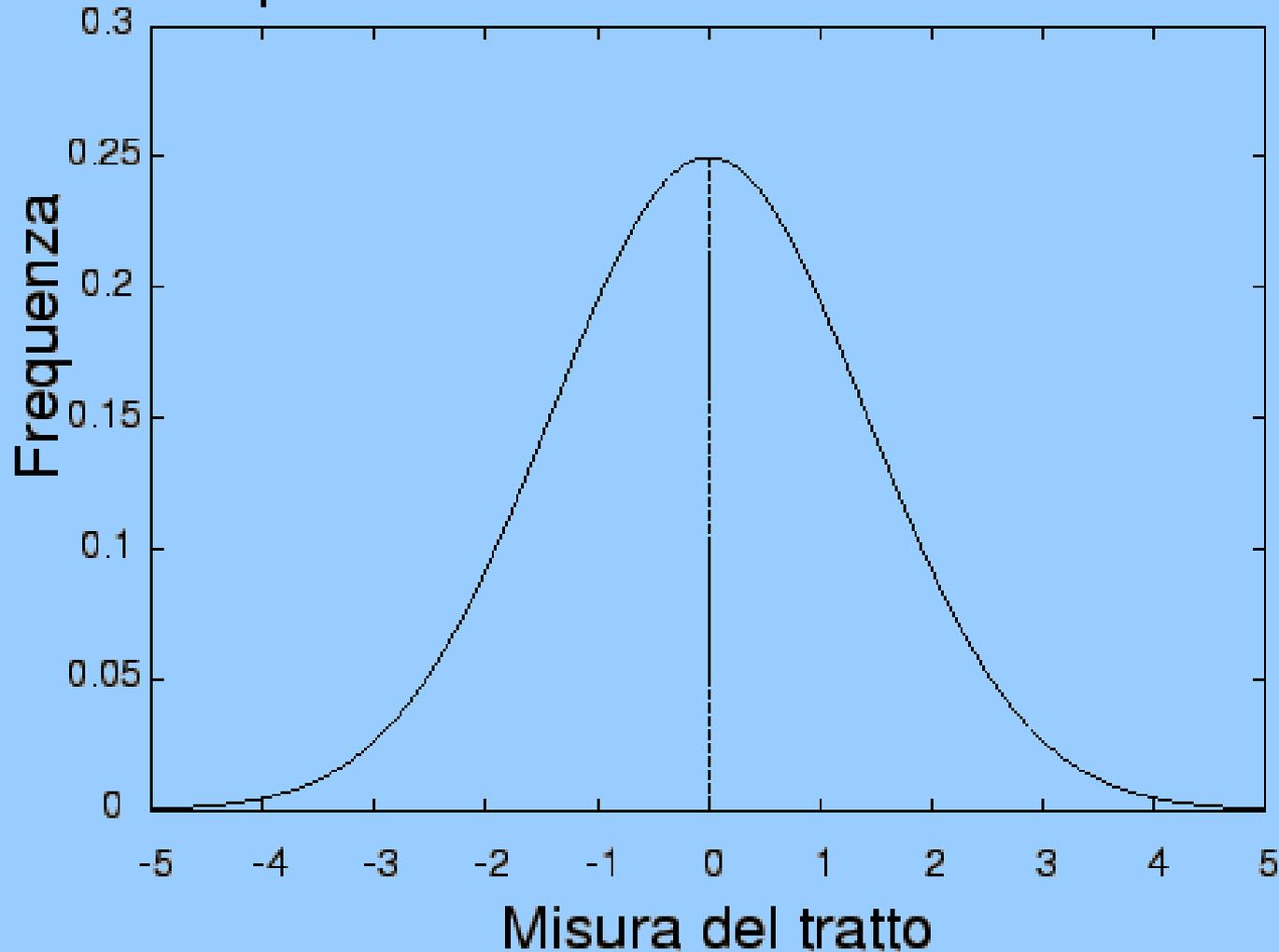
Distribuzione delle frequenze delle gradazioni di colore nella F2 →





I QTL

Un locus quantitativo è la posizione di mappa di un gene (o geni) che influenza una caratteristica che viene misurata su una scala quantitativa



In una popolazione i caratteri possono **variare in modo continuo**.

- Può essere dimostrato che questo tipo di **variabilità è sotto controllo genetico**.

- Si possono fare esperimenti per stabilire quale è la percentuale della varianza totale riferibile alla componente genetica.

- Ma cosa sono i determinanti genetici della variabilità continua in termini di DNA:

 - Geni come altri?

 - Qualche cosa di diverso?

 - Quanti sono? Come agiscono?

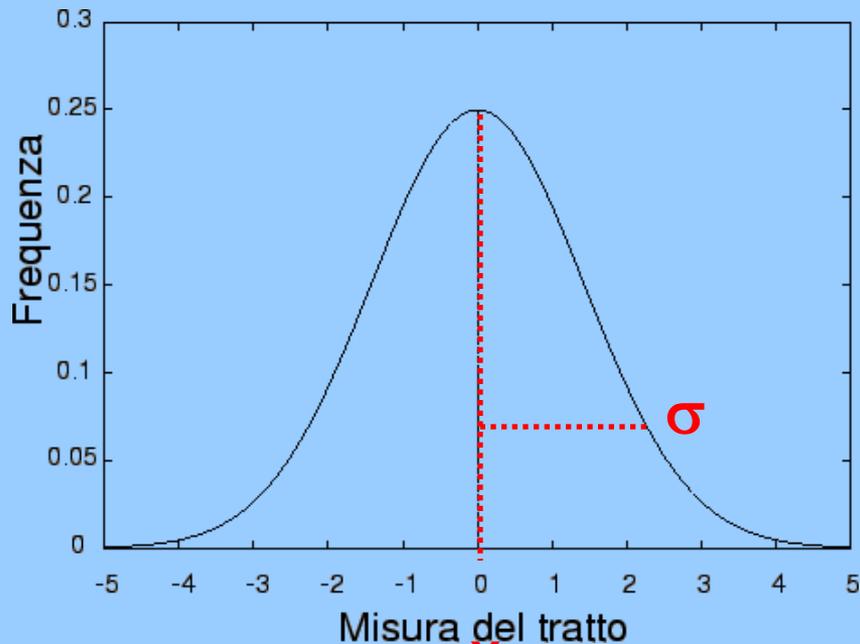
- impostare piani di miglioramento genetico mediante selezione, cioè per capire fino a che punto la selezione può essere efficace nel migliorare un determinato carattere

Lo scopo della **genetica quantitativa** è quello di analizzare e descrivere le **proprietà genetiche di una popolazione**, e specialmente quelle proprietà utili a predire le caratteristiche della stessa popolazione quando è sottoposta a **selezione** oppure ad altri fattori evolutivi.

Le differenze genetiche e le variazioni tra individui sottoposti a misurazione di molti caratteri quantitativi possono essere **causate da differenze genetiche tra individui o dalla reazione degli stessi individui all'ambiente o ancora dall'interazione tra genotipi ed ambiente.**

Caratteri quanti e qualitativi

	Quantitativi	Qualitativi
Distribuzione fenotipica	Continua	Discontinua
Numero di geni	Poligeni	Singolo o maggiore
Metodo statistico	ANOVA	χ^2 test
Effetto ambientale	Molto influente	Poco influente

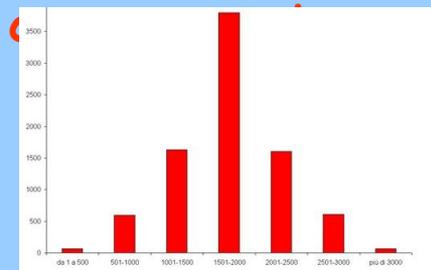


X Comportamento medio della popolazione dato dalla frequenza massima con cui il carattere si manifesta

σ Deviazione standard

1. Caratteri che presentano un **arco continuo** di manifestazioni tra espressioni estreme
2. La loro segregazione può essere descritta mediante **raggruppamento in classi** di ampiezza e numero definite arbitrariamente
3. La distribuzione delle frequenze si avvicina ad una **curva normale**

All'aumentare il n. di loci che controllano il carattere il n. di genotipi diventa sempre più grande



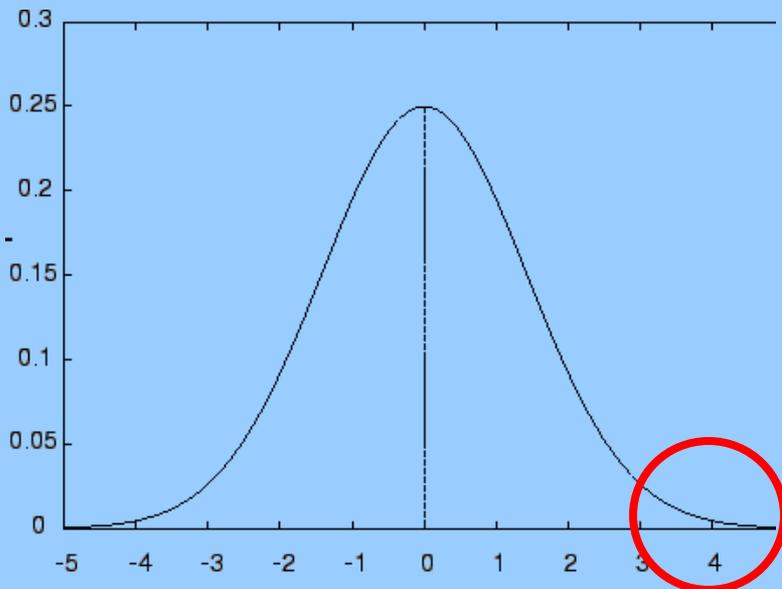
Se ogni genotipo esprime un fenotipo distinto, saranno presenti molti fenotipi diversi



L'espressione fenotipica è influenzata dall'ambiente

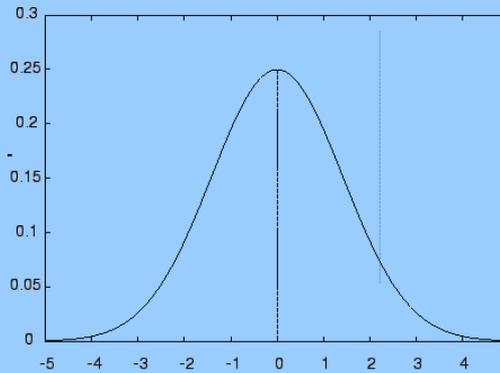
$$VF = VG + VA$$

È scarso l'effetto di un singolo gene ma risentono fortemente dell'influenza dell'ambiente



Il lavoro del miglioratore è di selezionare all'interno di una popolazione gli individui i cui genomi si pongono sulla parte estrema della curva gaussiana

Il miglioramento genetico sfrutta la variabilità genetica



La distribuzione dei tratti quantitativi è "smussata" e non discreta:

Perchè?

EFFETTO AMBIENTALE influenza l'espressione del carattere spostandone + o - casualmente l'espressione e producendo una distribuzione continua di valori misurati

Si tratta di **CARATTERI POLIGENICI** alla cui espressione contribuiscono numerosi geni. Il contributo di ciascun gene può essere importante o quasi trascurabile, il risultato è comunque una distribuzione continua

Se osservo variabilità fenotipica
in assenza di variabilità genetica
allora $V_F = V_A$

Se osservo variabilità fenotipica
in assenza di variabilità ambientale
allora $V_F = V_G$

$$V_G = 0 \quad V_A = 0$$

in una popolazione di piante nate da seme, la varianza osservata (qualora queste vengano coltivate in condizioni completamente controllate) è ascrivibile solo alla **componente genetica**.

L'ereditabilità

Per poter selezionare bisogna conoscere in che modo le due componenti della variabilità agiscono sulla variabilità fenotipica

$$VG / VF$$

$$VG / VG + VA = h^2$$

di un tratto quantitativo è un parametro molto importante e dà una misura quantitativa della *componente genetica* e quindi *ereditabile* di un tratto quantitativo. È una caratteristica relativa alla popolazione.

Indica la porzione della VF che posso ritrovare dopo la selezione nella generazione successiva

Varianza genotipica

1) Varianza additiva:

Effetto additivo di un gene:
quando la sostituzione di un allele ad un locus
causa un cambiamento nella performance
fenotipica

2) Varianza non additiva:

- a) di dominanza 'D' (intra-allelica)
- b) epistatica 'I' (inter-allelica)

Varianza genotipica

Varianza additiva

$$AA=6$$

$$Aa=5$$

$$aa=4$$

La performance aumenta con ogni allele

Varianza non additiva

$$AA=6$$

$$Aa=6$$

$$aa=4$$

Varianza di dominanza o intra-allelica

Ereditabilità: h^2

La proporzione di variabilità osservata dovuta alla componente genetica (senso lato) o dovuta agli effetti additivi dei geni (senso stretto).

E' utile nel predire i risultati della selezione per un determinato tratto.

$$h^2_{s.lato} = \frac{V_G}{V_f}$$

$$h^2_{s.stretto} = \frac{V_A}{V_f}$$

Quando:

$h^2 = 0$, non c'è effetto genetico
(la selezione non ha effetto)

$h^2 = 1$, è tutto effetto genetico
(massimo effetto della selez.)

Solo effetto
ambientale

Effetto ambientale nullo

L'ereditabilità in senso lato ignora il fatto che la varianza genetica possa essere additiva, di dominanza o epistatica

Il miglioratore è interessato a conoscere quanta parte della variabilità fenotipica sia dovuta agli effetti genetici additivi

Questa componente ci permette di fare delle previsioni circa il fenotipo medio della progenie partendo da quello dei parentali



h^2

È la porzione della varianza totale che può essere trasmessa alla progenie, quindi fissabile geneticamente

La risposta alla selezione

Quando si trattano caratteri qualitativi, questi possono essere fissati in omozigosi nell'arco di una generazione.

Quando si trattano QTL si lavora con la media della popolazione \bar{X}

$$\bar{X}_P \longrightarrow \bar{X}_O$$

$$R = \bar{X}_O - \bar{X}_P$$

Dove:

R = risposta alla selezione

X_O = media della progenie

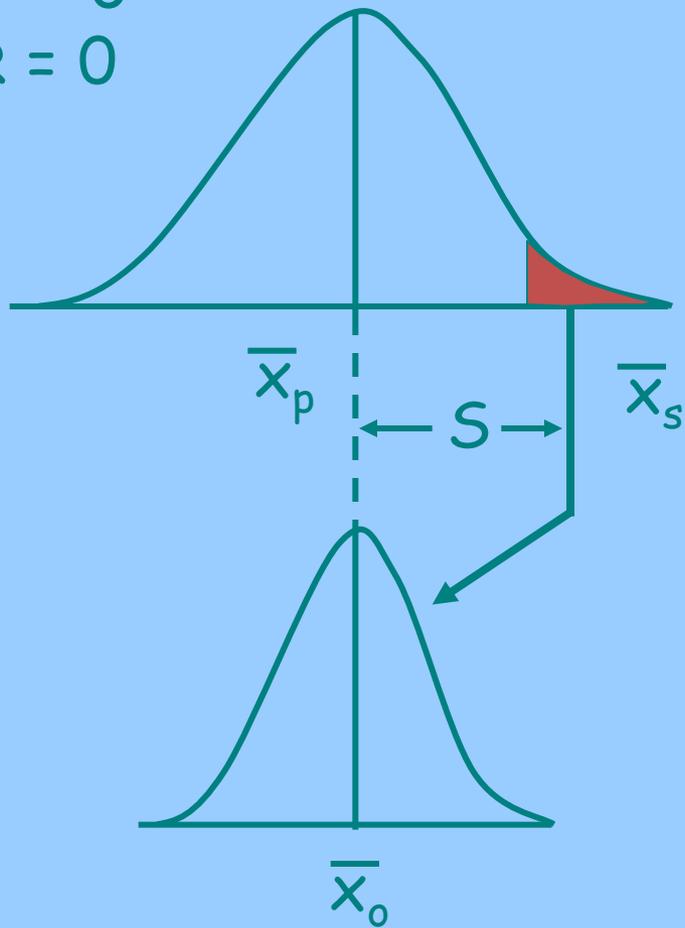
X_P = media dei parentali

Fattori che influenzano la risposta alla selezione:

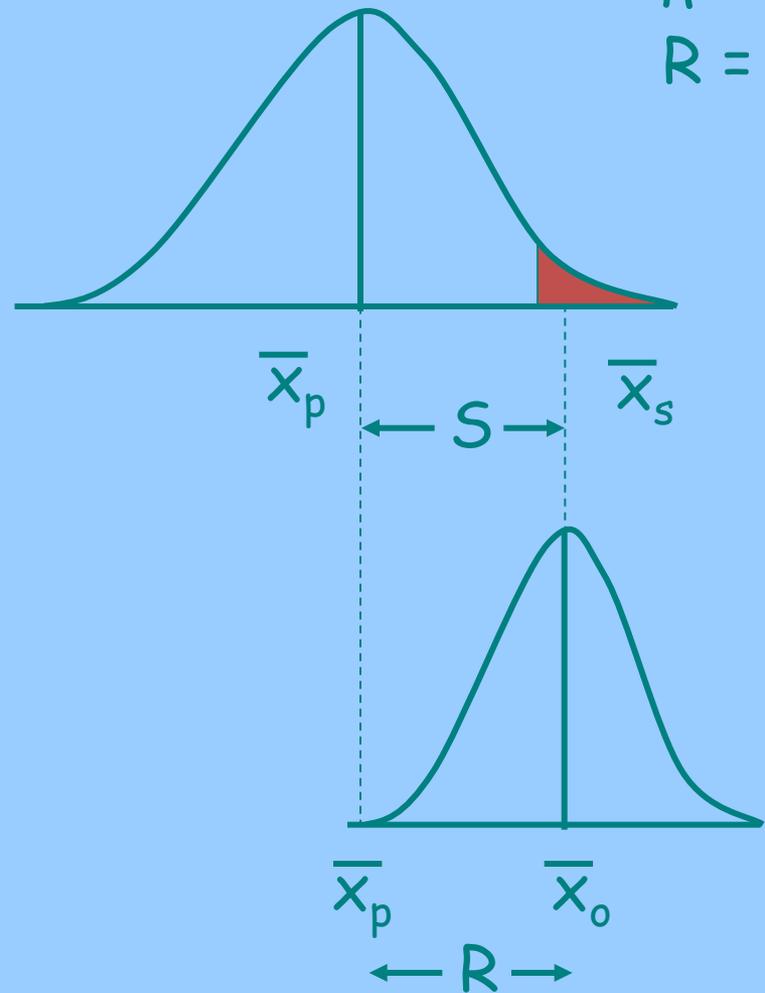
1. pressione selettiva
2. h^2 del carattere

La pressione selettiva

$$h^2 = 0$$
$$R = 0$$



$$h^2 = 1$$
$$R = S$$



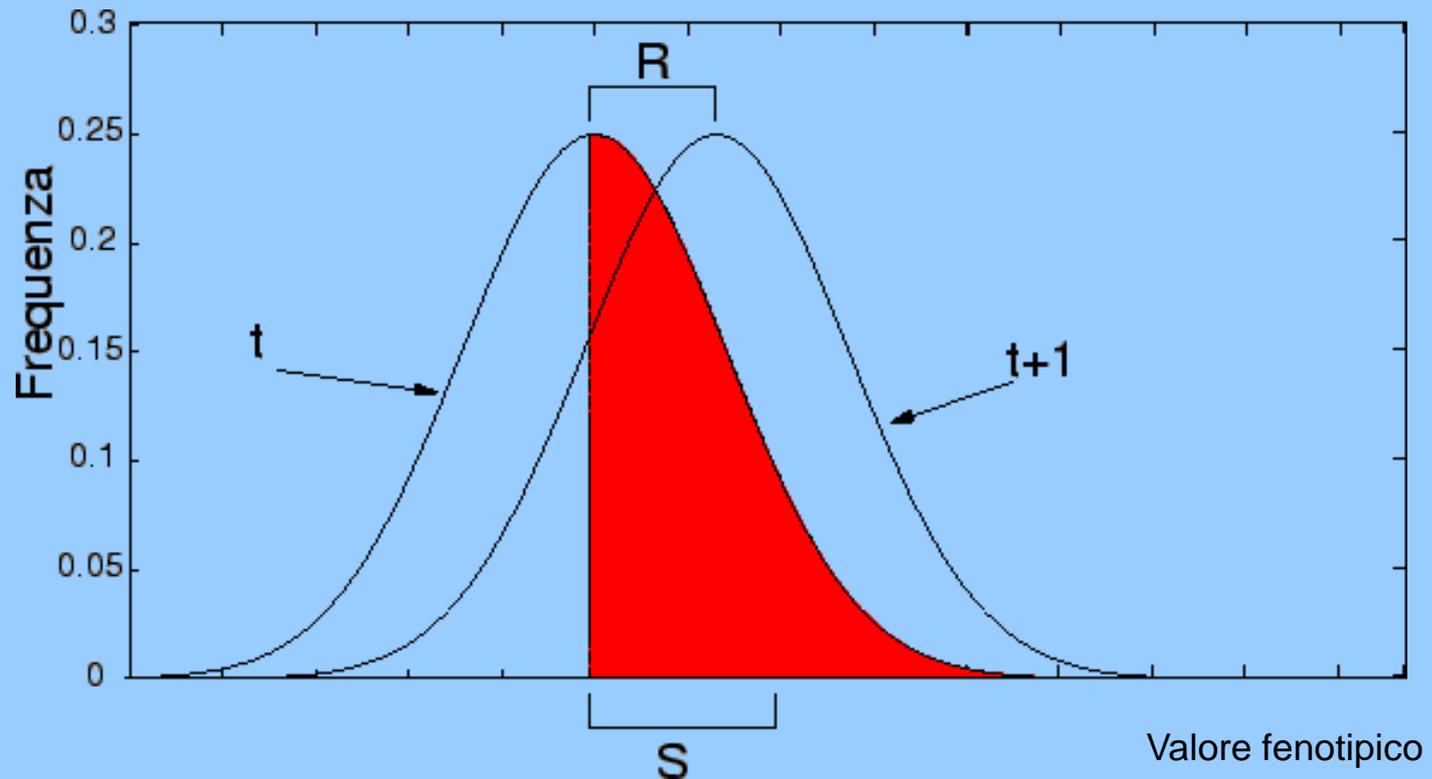
L'ereditabilità: parametro importante **permette di prevedere la risposta alla selezione**

Se indichiamo con ***S*** il ***coefficiente differenziale di selezione***,

cioè la differenza fra la media del tratto nella popolazione parentale e la media della parte di popolazione parentale selezionata (media della zona rossa nella figura),

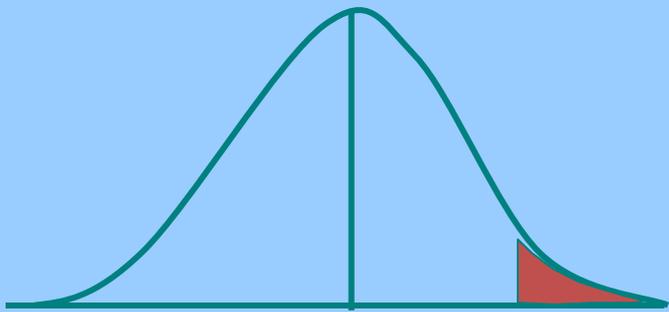
lo **spostamento (R)** della media della popolazione parentale a quella della progenie sarà dato da:

$$R = h^2 S$$



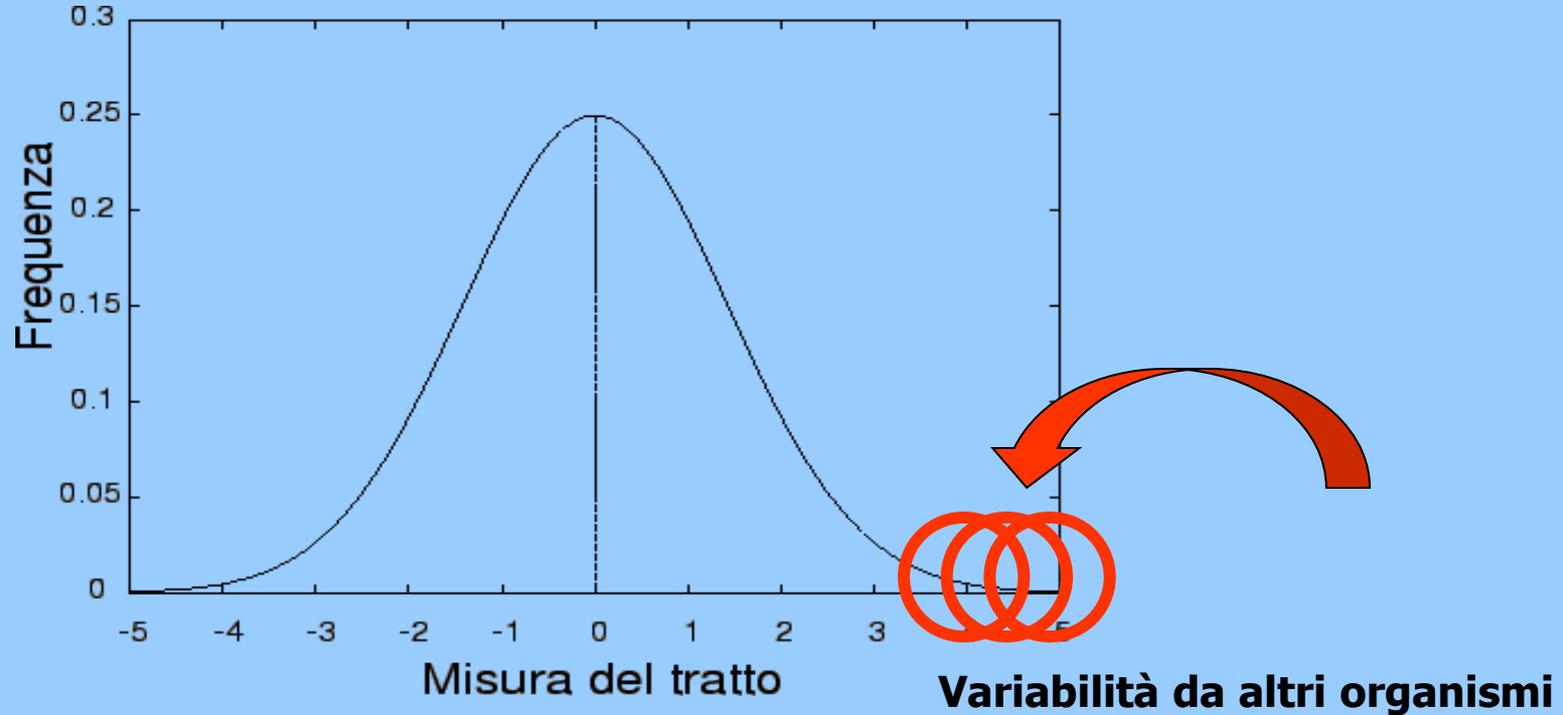
il tratto considerato migliorerà (crescerà o calerà) in modo proporzionale **all'intensità di selezione** e all'**ereditabilità** del tratto stesso.

Incrementando troppo la selezione la dimensione della popolazione diminuisce e si può incorrere in problemi di inbreeding.



Il carattere continuerà a rispondere alla selezione, generazione dopo generazione fino a quando.....

Quanta variabilità genetica è rimasta



Ma tutto ciò quanto potrà proseguire? è possibile che ad un certo punto si raggiunga il massimo di variabilità alla quale attingere?

Diventa interessante parlare di incremento della resa dovuto alle piante transgeniche.!!!!!!!

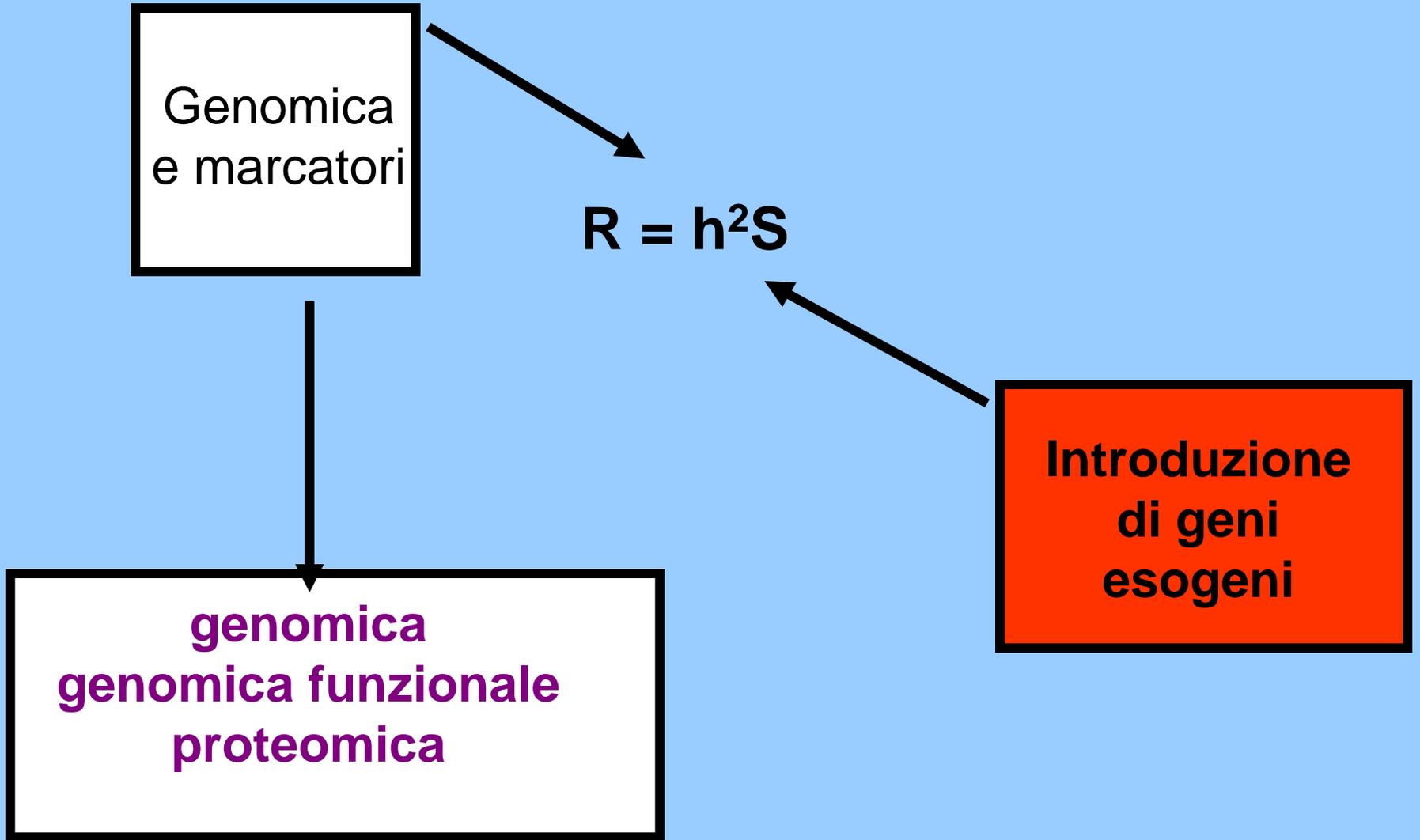
Si tratta di un metodo per introdurre della variabilità derivante da altri organismi, un sistema per utilizzare, virtualmente, tutta la variabilità genetica presente in natura.

Genomica
e marcatori

$$R = h^2S$$

Introduzione
di geni
esogeni

genomica
genomica funzionale
proteomica



Una visione "fenocentrica" del miglioramento vegetale



le performance di una determinata coltura sono determinate dal genotipo coltivato e dall'ambiente in cui viene coltivato



Si cerca di migliorare le colture mediante lo studio di opportune combinazioni di alleli di geni che governano dei tratti fondamentali

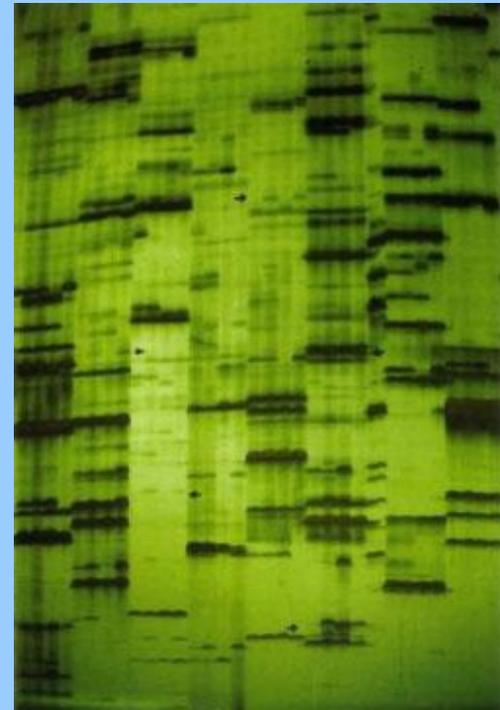
Lo sviluppo di nuove varietà richiede un enorme lavoro di ricerca di base per determinare le basi genetiche dei caratteri



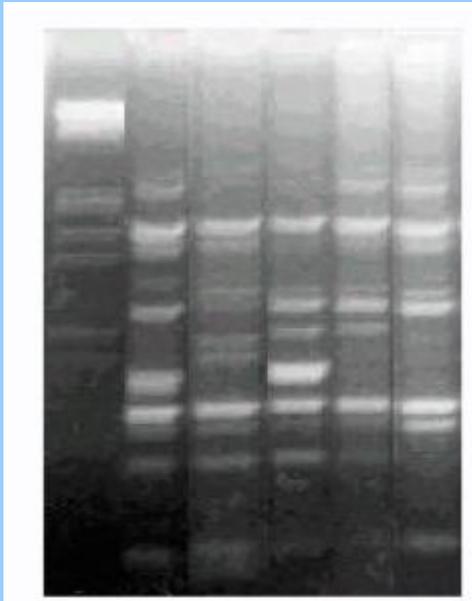
La maggioranza dei quali è ancora da scoprire

Quando i geni responsabili sono stati scoperti e studiati si creano i marcatori per assistere al breeding

Lo sviluppo dei marcatori molecolari ha aperto nuove possibilità: associare il MM inequivocabilmente al fenotipo



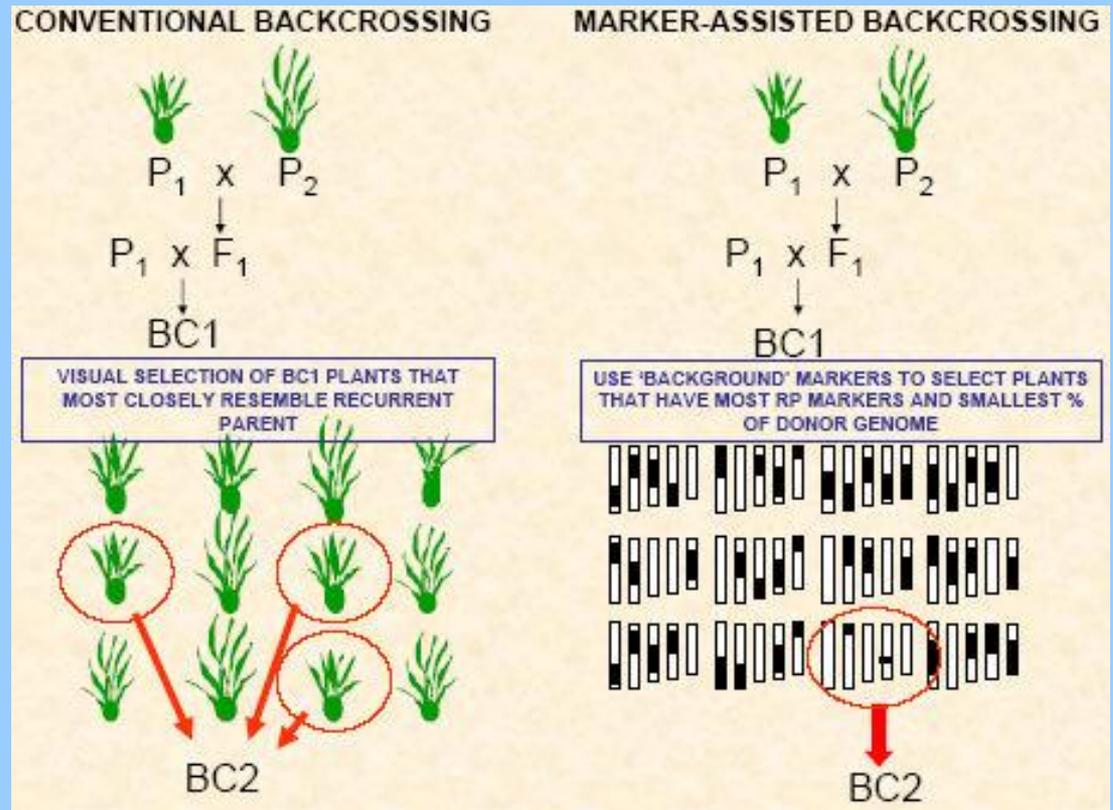
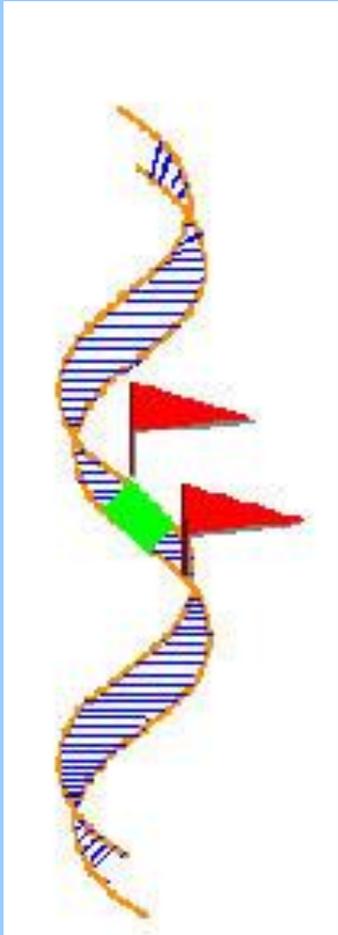
L'uso dei marcatori molecolari consente
di identificare le interazioni fra geni
di reperire alleli favorevoli in specie selvatiche



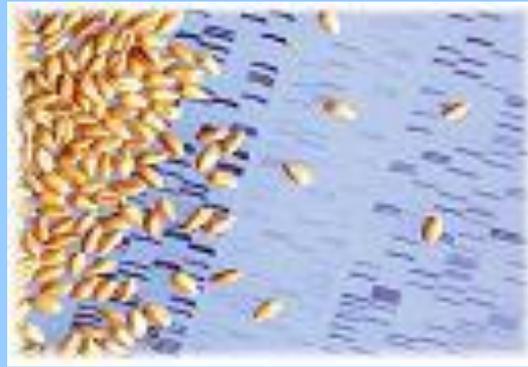
il successo della applicazione di queste tecnologie dipende dall'esistenza di sufficiente variabilità genetica nei caratteri importanti; se questa variabilità manca, cioè se non esistono differenze tra gli alleli di un certo locus, è probabile che l'importanza di quel locus non possa essere rivelata

È indispensabile scoprire l'associazione tra il QTL ed il marker

Identificare un tratto del genoma associato a 2 marker



Esempio in riso:



Poca ricerca pubblica (1990-2000) in biologia molecolare delle piante per il miglioramento delle specie coltivate

USDA rice breeding program (1993) biotecnologie + breeding convenzionale con un partner industriale

progetto sullo sviluppo di marcatori molecolari associati ad un carattere ereditabile che influenza le caratteristiche dell'amido di riso e quindi le caratteristiche alla cottura

Sono stati identificati dei marcatori associati al contenuto di amilosio del seme

La quantità di amilosio nel seme è il fattore predominante nel determinare softness/firmness del riso dopo cottura

Con il breeding convenzionale tale carattere può essere valutato solo dopo diverse generazioni di autofecondazione (molto seme a disposizione)

MM associato a questo carattere permette di identificare la forma desiderata del gene all'inizio del processo di selezione utilizzando DNA estratto da qualsiasi tessuto della pianta

La tecnologia permette di identificare rapidamente le linee genetiche con gli alleli desiderati e di scartare le altre.

Sviluppo di 2 nuove cultivars con high processing quality

Generalmente servono 7-10 anni per lo sviluppo di una nuova cultivar, con MM si diminuisce di molto questo periodo

Mappaggio di QTL

La disponibilità di un numero molto elevato di marcatori molecolari ha rivoluzionato il modo di studiare i caratteri quantitativi o QTL

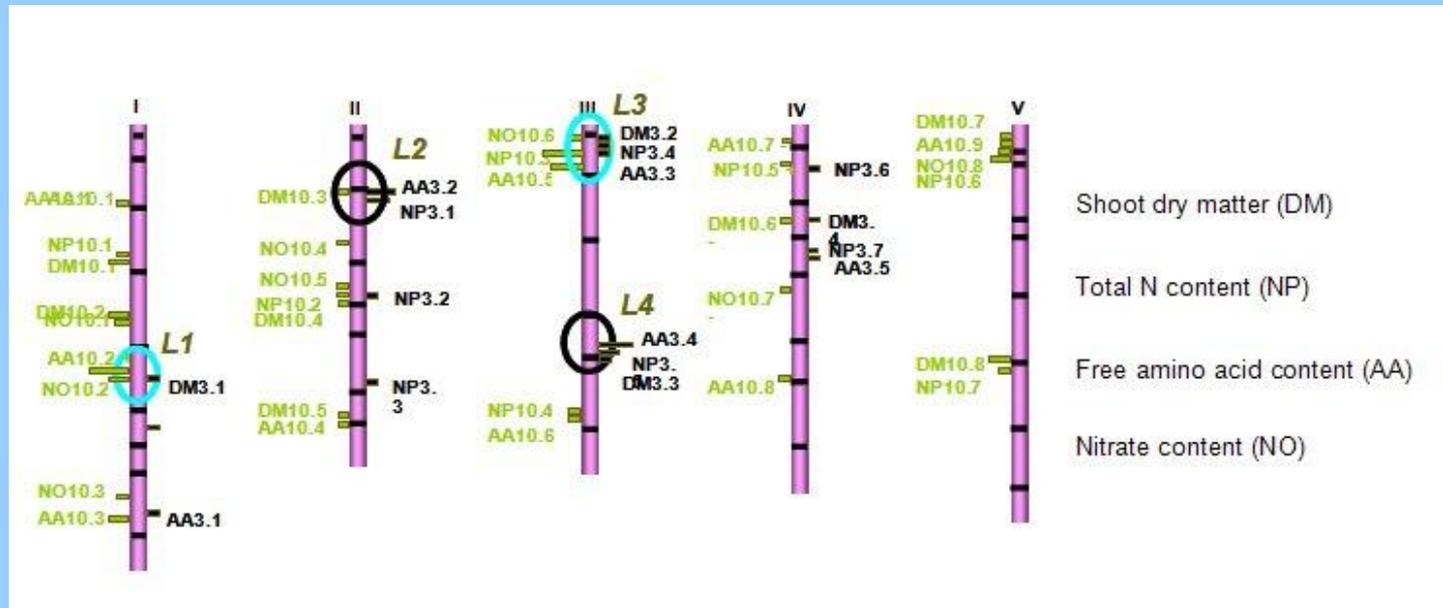
È una metodologia promettente applicabile in linea generale a qualunque carattere quantitativo sia

settori scientifici applicativi

come la medicina, le scienze agrarie e forestali e le biotecnologie;

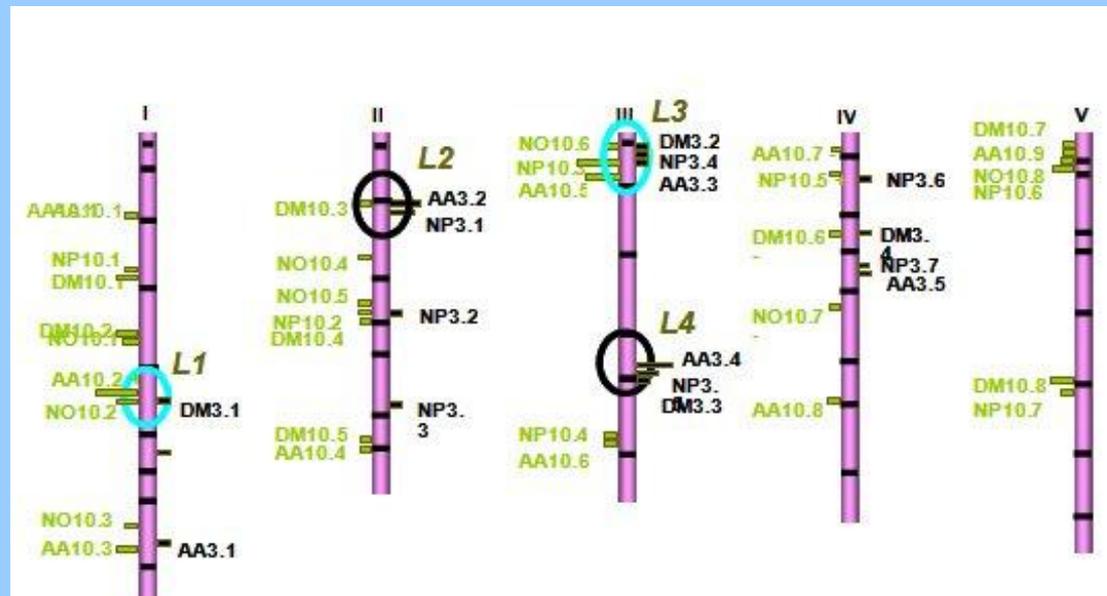
scienze di base

come la genetica classica, genetica molecolare, umana e non da ultimo l'ecologia evolutivistica.



Obiettivo

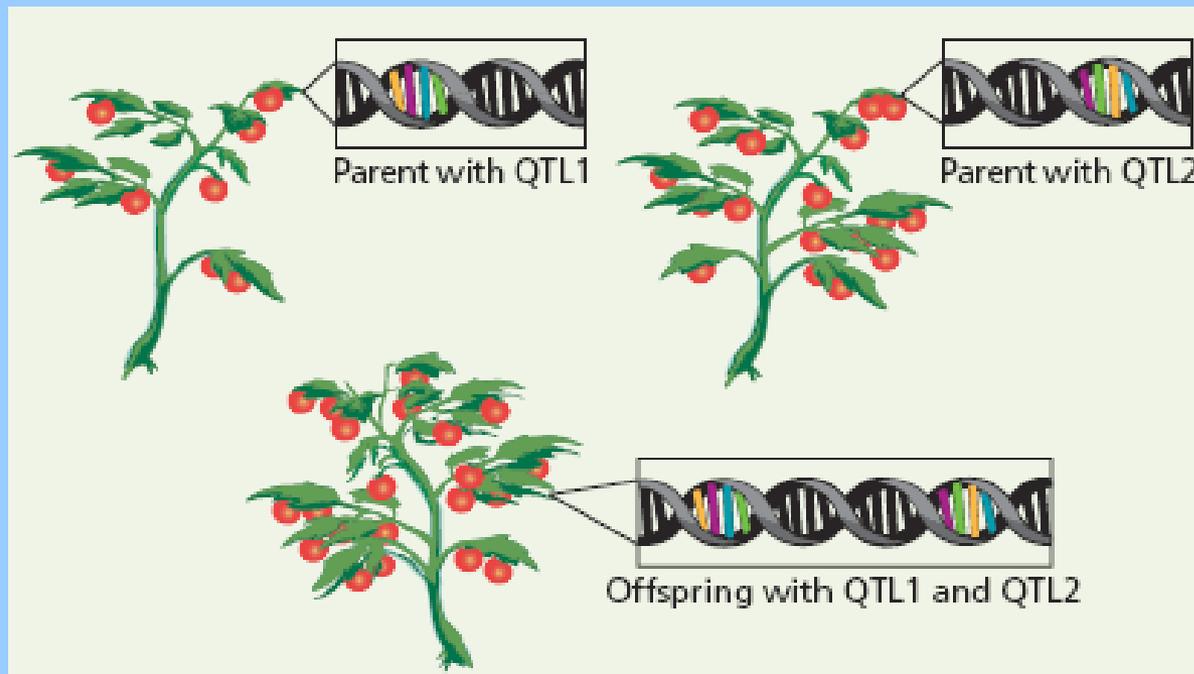
Mappare uno o più QTL significa *associare un tratto genetico quantitativo ad uno o più marcatori genetici* e, se è nota la posizione del marcatore sulla mappa genetica, si può quindi *"mappare"* (individuare, localizzare) il tratto quantitativo sul genoma.



Es: si può trovare il marcatore associato ad una resistenza, uno o più marcatori associati ad una crescita maggiore, alla resistenza alla siccità, alla capacità di fiorire precocemente o tardivamente, ecc.

Il vantaggio (forse il più importante)

la possibilità di attuare la **MAS (Marker Assisted Selection)**.
Si può operare la selezione di certi genotipi che presenteranno un fenotipo desiderabile basandosi semplicemente su un'analisi molecolare precoce con pochi marcatori molecolari, senza dover aspettare che il tratto fenotipico si manifesti.



Il vantaggio per il miglioramento genetico sarebbe enorme!!
Specie erbacee e specie arboree e specie forestali.

Pre-requisiti

Per avere garanzia di successo in un'analisi QTL sono necessarie alcune cose:

1. un numero molto elevato di marcatori molecolari polimorfici
2. uno o più tratti fenotipici caratterizzati da una elevata ereditabilità
3. una popolazione segregante

La popolazione segregante (backcross o F_2) in cui si sono incrociati individui con **caratteristiche opposte ed estreme** rispetto al tratto quantitativo in esame

(es: incrocio individui sensibili con individui resistenti ad una certa malattia,
incrocio fra individui precoci con individui tardivi, ecc.).

Si otterrà una popolazione dove i geni (MM) che controllano il tratto quantitativo interessato **“segregano”**.

Base metodologica

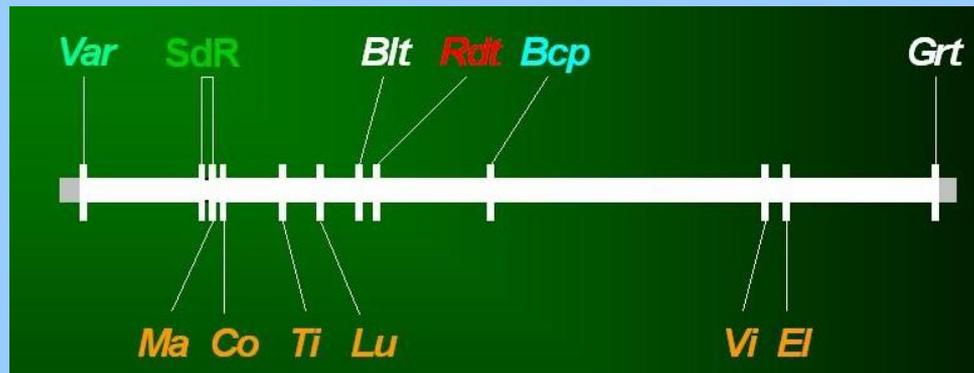
Il metodo si basa su una *co-segregazione* fra i geni che controllano il tratto quantitativo (QTL) e uno o più marcatori genetici.

Sugli stessi individui della popolazione segregante viene eseguita:

- l'analisi genetica dei marcatori molecolari
- la misurazione dei tratti quantitativi

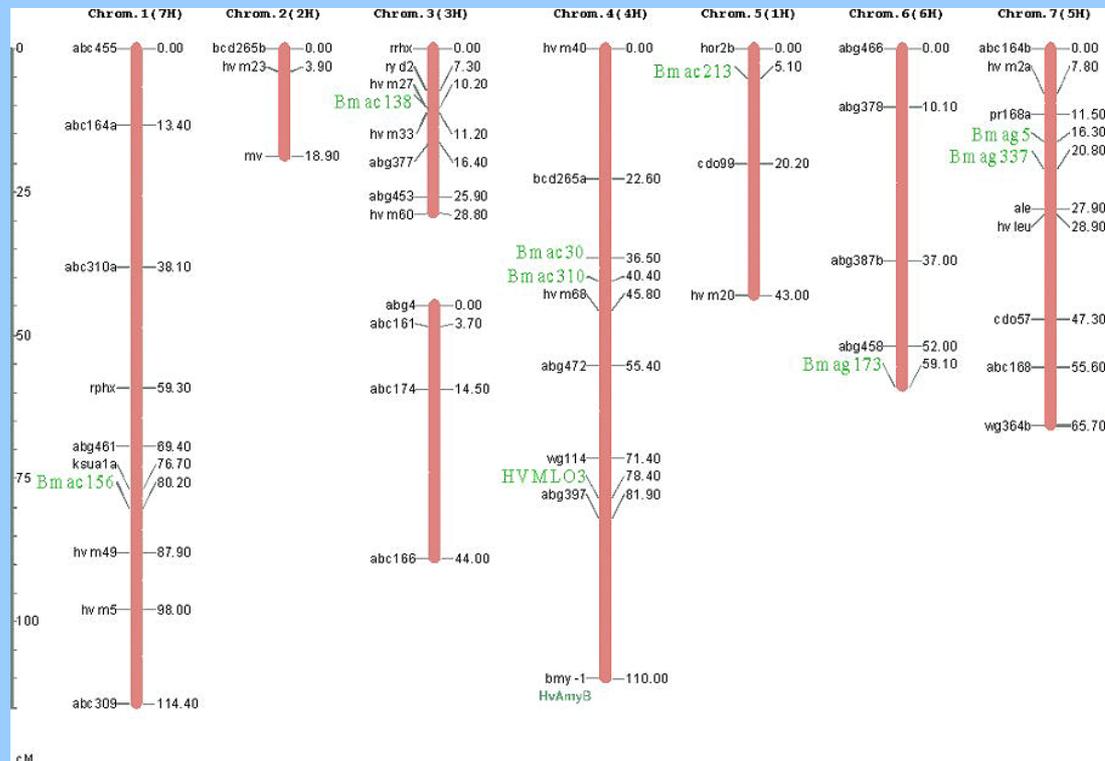
È preferibile, per alcuni tipi di analisi QTL, costruire una mappa genetica dei marcatori molecolari.

I marcatori molecolari vengono *ordinati* in gruppi di associazione (che dovrebbero corrispondere ai cromosomi) in base al linkage e la distanza di mappa fra un marcatore e un altro (cM) è proporzionale alla frequenza di ricombinazione.



Più fitta e ``densa'' di marcatori è la mappa, maggiore è la probabilità di trovare un'associazione fra tratto e marcatore e di mapparla con precisione.

Di solito il numero di marcatori mappati è superiore a 100 (spesso sono centinaia) e la dimensione della popolazione segregante è di qualche centinaio di individui (meglio attorno a 1000).



N.B.

Prima dell'inizio dell'analisi

1. non ha nessuna idea di quale marcatore possa essere associato al tratto fenotipico,
2. di come sia la mappa genetica
3. e di quale funzione realmente svolga l'eventuale QTL trovato.

Semplicemente si eseguono dei test con un numero elevato di marcatori e si *spera* di trovare un'associazione significativa. La reale attività del QTL rimane ignota, si sa solo che ha una funzione statisticamente rilevante per il tratto fenotipico analizzato.

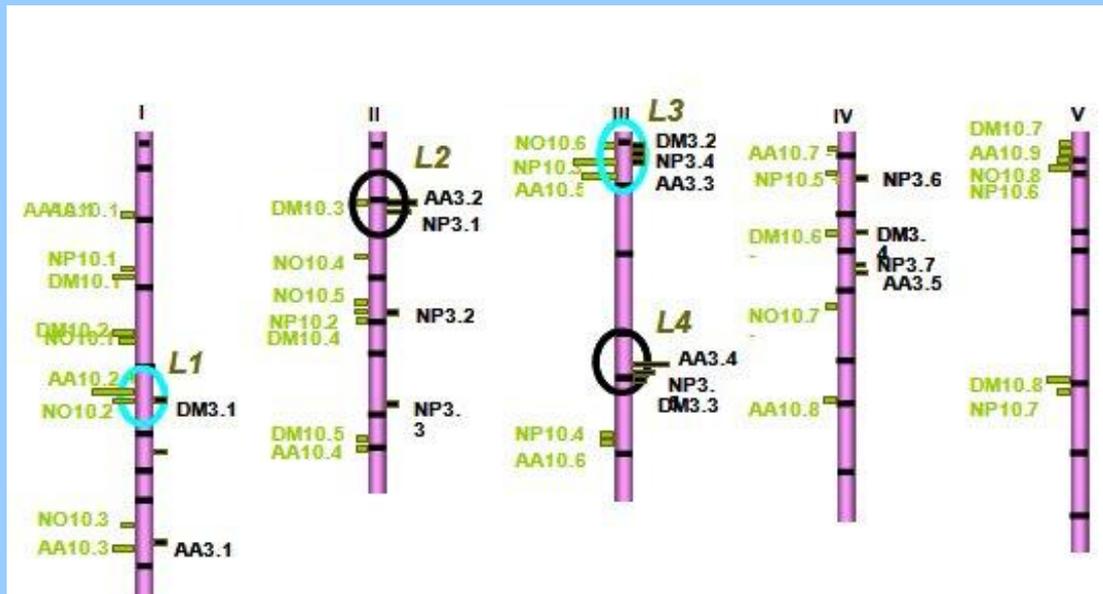
L'obiettivo è quello di trovare un marcatore (A) associato (linked) ad un QTL (Q).



È chiaro che la possibilità di trovare questa associazione dipende da due fattori:

1. l'effetto che il QTL ha sul tratto fenotipico
2. la distanza (r) che separa il marcatore dal QTL (è importante avere alta risoluzione!!)

Ma perché è importante la distanza marcatore-QTL?

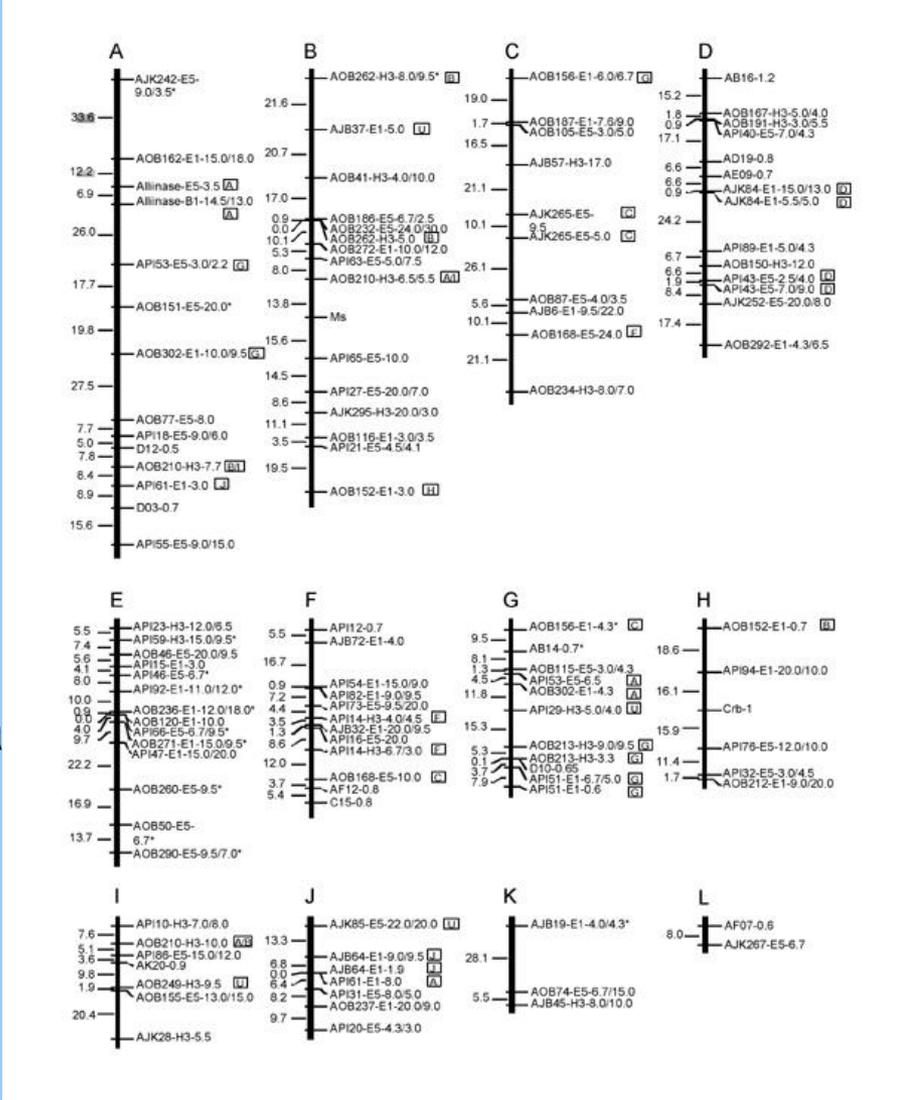


La frazione di ricombinazione

viene stimata dalla frazione di individui ricombinanti rispetto al totale degli individui analizzati.

Quando due loci sono completamente un-linked la frazione di ricombinazione è pari a 0.5.

Non si parla più di associazione genica ma di associazione tra marcatori



Interval Mapping

Per quest'analisi i marcatori devono essere ordinati in una mappa di linkage. Il test viene effettuato prendendo coppie di marcatori adiacenti e il QTL viene supposto essere fra i due marcatori:

